

- Elliott C. G. Environmental effects on the distribution of chiasmata among nuclei and bivalents and correlation between bivalent. — *Heredity*, 1958, vol. 12, p. 429—439.
- John B. a. Lewis K. R. The meiotic system. *Protoplasmatologia*, 1965, vol. 6, F. 1, p. 14—23.
- Jones G. H. The control of chiasma distribution in rye. — *Chromosoma*, 1967, vol. 22, p. 69—90.
- Jones G. H. a. Rees H. Genotypic control of chromosome behaviour in rye. 8. Distribution of chiasmata within pollen mother cells. — *Heredity*, 1964, vol. 19, p. 719—730.
- Mather K. a. Lamm R. The negative correlation of chiasma frequencies. — *Hereditas*, 1935, vol. 20, p. 65—70.
- Myers W. M. Variations in chromosomal behaviour during meiosis among plants of *Lolium perenne* L. — *Cytologia*, 1941, vol. 3, p. 388—406.
- Muntzing A. a. Akdik S. Cytological disturbances in the first inbred generations in rye. — *Hereditas*, 1948, vol. 34, p. 485—509.
- Nolte D. J., Meyers B. Genetic and environmental factors affecting chiasma formation in locusts. — *Chromosoma*, 1969, vol. 27, p. 145—155.
- Prakken R. Studies of asynapsis in rye. — *Hereditas*, 1943, vol. 29, p. 475—485.
- Rees H. Genotypic control of chromosome behaviour in rye. I. Inbred lines. — *Heredity*, 1955, vol. 9, p. 93—105.
- Rees H. Genotypic control of chromosome behaviour in rye. IV. The origin of a new variation. — *Heredity*, 1957, vol. 11, p. 185—193.
- Rees H. Genotypic control of chromosome form and behaviour. — *Bot. revs.*, 1961, vol. 27, p. 288—318.
- Rees H. a. Thompson J. B. Genotypic control of chromosome behaviour in rye. III. Chiasma frequency in homozygotes and heterozygotes. — *Heredity*, 1956, vol. 10, p. 409—424.
- Rees H., Thompson J. B. a. Lawrence C. Genotypic control of chromosome behaviour in rye. V. The distribution pattern of chiasmata between pollen mother cells. — *Heredity*, 1958, vol. 12, p. 101—111.
- Riley R. a. Law C. N. Genetic variation in chromosome pairing. — *Adv. genet.*, 1965, vol. 13, p. 57—107.
- Sun S. a. Rees H. Genotypic control of chromosome behaviour in rye. VII. Unadaptive heterozygotes. — *Heredity*, 1964, vol. 19, p. 357—367.
- Sybenga J. Inbreeding effect in rye. — *Z. Vererb.*, 1958, vol. 89, p. 323—327.
- Zečević L. M. Cytogenetic study of inbred lines of maize. II. Chiasma frequency at diakinesis. — *Zbornik radova. Biološki institut. N. R. Srbija. Beograd*, 1961, vol. 5, p. 43—50.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ЭСТЕРАЗ В ЛИНИЯХ И ЯЩИЧНЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

А. Н. Пахомов, Л. З. Кайданов, А. А. Аронштам

Лаборатория генетики и цитогенетики животных
и лаборатория экспериментальной цитологии БиНИИ ЛГУ

Открытие множественных молекулярных форм ферментов (Markert, Möller, 1959) значительно обогатило возможности изучения генетической изменчивости природных популяций (Hubby, Lewontin, 1966; Spiess, 1968; Fox e. a., 1971). Новое освещение получил вопрос о степени популяционного полиморфизма, а также о механизмах его поддержания (Spiess, 1968; Kimura, Ohta, 1971; Кирпичников, 1972).

В ряде работ, выполненных на дрозофиле, получены указания на селективные различия между аллозимами и на участие отбора в контролировании их состава и частоты встречаемости в популяции. Так, наличие клинальной изменчивости было обнаружено по ряду ферментов у *Drosophila pseudoobscura* и у *D. melanogaster* (O'Brien, McIntyre, 1969; Гроссман и др., 1970). Преимущество гетерозигот было отмечено в популяции *D. paulistorum* по локусу тетразолий-оксидазы (Richmond, Powell, 1970). Селективное преимущество гетерозиготных особей, а также действие частотно-зависимого отбора в отношении генотипических

классов, контролируемых аллелями локуса *Est-6*, было показано при изучении ящичных популяций *D. melanogaster* (Kojima, Yarbrough, 1967; Kojima, Tobagi, 1969; Huang e. a., 1971).

Вместе с тем в ряде других исследований белкового полиморфизма не удалось выявить различий между генотипическими классами по их адаптивной ценности (Krimbas, Tsakas, 1971; Yamazaki, 1971). Подобные негативные результаты используются некоторыми авторами в качестве аргумента для обоснования концепции нейтральной эволюции (Kimura, 1968; Kimura, Ohta, 1971; King, Jukes, 1969; Arnheim, Taylor, 1970), которая подвергается в настоящее время острой критике (Richmond, 1970; Кирпичников, 1972).

Цель настоящей работы заключается: 1) в выявлении характера полиморфизма эстераз при сравнении аутбредных и инбредных линий, а также долгоживущих ящичных популяций; 2) в изучении становления полиморфизма по локусу *Est-6* во вновь создаваемых ящичных популяциях.

Материал и методика. Для сравнения характера полиморфизма эстераз в выборках мух различного происхождения были использованы: высокоинбредные линии НА и ВА, которые прошли свыше 100 поколений отбора на различия по половой активности самцов (Кайда-

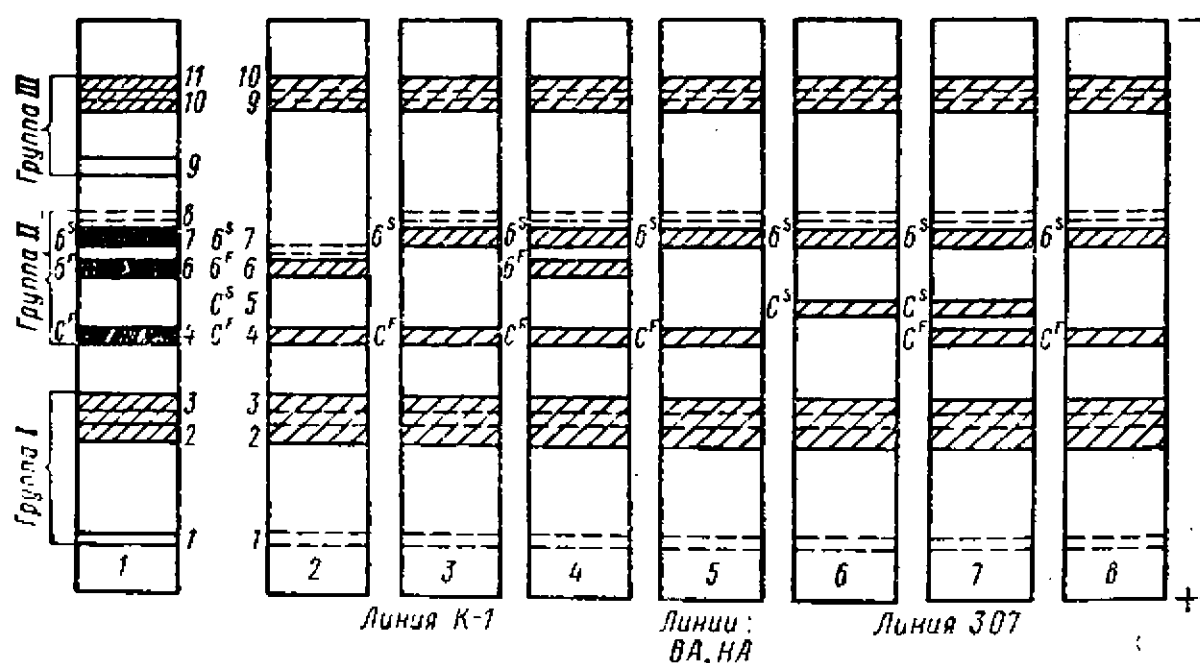


Рис. 1. Зимограммы множественных молекулярных форм эстераз в линиях *Drosophila melanogaster*.

Группы эстераз: I — анодная, II — центральная, III — катодная. 1 — 11 — отдельные фракции эстераз; 6^S и 6^F , C^S и C^F — «медленные» и «быстрые» фракции эстераз, контролируемые аллелями локусов *Est-6* и *Est-C*.

нов и др., 1972а, б); аутбредная линия К-1; умеренно инбридированная линия 307, гомозиготная по мутациям *st ss e*, локализованным в III хромосоме; выборка мух из природной популяции «Арапат»; выборки мух из двух долгоживущих (свыше 40 поколений) ящичных популяций (№ 1 и № 3), составленных первоначально из особей 55-й генерации линии НА, при этом ящик № 3 включал в F_0 40 особей только линии НА, а ящик № 1 — 39 мух линии НА и одну особь из линии К-1.

Динамику становления полиморфизма по локусу *Est-6* прослеживали в трех ящичных популяциях: № 4, 6 и 7. Ящик № 4 в F_0 содержал 39 гомозигот *Est-6^S/Est-6^S* из линии НА (F_{93}) и одну гетерозиготу *Est-6^S/Est-6^F* из линии К-1. Ящик № 6 включал в F_0 40 гомозигот *Est-6^S/Est-6^S* из линии НА (F_{100}). Ящик № 7 был первоначально составлен из 40 гомозиготных мух *Est-6^F/Est-6^F* К-1.

Все ящичные популяции развивались в стандартных условиях при температуре $25 \pm 1^\circ \text{C}$. Смену корма производили через день; постоянно в каждом ящике находился 21 стаканчик со стандартной дрожжевой средой; одни и те же стаканчики оставались в каждом ящике 13 дней.

Для электрофоретического фракционирования эстераз одиночных мух гомогенизировали на часовых стеклах в 3—4 каплях буфера трис-НСI (0,1М, рН 7,4), содержащего 10^{-3}М ЭДТА, 10^{-3}М 2-меркаптоэтанола и 30% сахарозы. Полученные гомогенаты подвергали дисковому электрофорезу по методу Дэвиса в нашей модификации (Пахомов и др., 1970); в качестве разделяющего геля применяли полиакриламидный гель 5%-ной концентрации. Продолжительность электрофореза при токе 3 ма на трубку составляла 2,5 ч. По завершении электрофореза колонки геля извлекали из трубок и выдерживали в трис-НСI буфере (рН 7,4; 0,01М) в течение 30 мин. при комнатной температуре. Эстеразы выявляли гистохимическим методом Гомори (Gomori, 1952).

Идентификация и картирование аллелей локусов *Est-6* и *Est-C* были проведены нами ранее с помощью тестерной линии, гомозиготной по мутантным маркерам *st ss e* (Пахомов и др., 1972).

Частота генотипических классов, контролируемых локусом *Est-6* в линиях и популяциях *Drosophila melanogaster*

Линии и популяции	Число особей (n) и частота генотип. классов (%)	Количество особей генотипов		
		<i>Est-6^S/Est-6^S</i>	<i>Est-6^S/Est-6^F</i>	<i>Est-6^F/Est-6^F</i>
НА (высокоинбредная линия)	<i>n</i> %	150 100	— —	— —
ВА (высокоинбредная линия)	<i>n</i> %	200 100	— —	— —
К-1 (аутбредная линия)	<i>n</i> %	44 $45 \pm 5,0$	50 $50 \pm 5,0$	5 $5 \pm 2,2$
„Арагат“ (природная популяция)	<i>n</i> %	30 $38 \pm 5,4$	36 $45 \pm 7,8$	14 $17 \pm 4,2$
„Ящик 1“ (модельная популяция)	<i>n</i> %	36 $36 \pm 4,8$	47 $47 \pm 5,0$	17 $17 \pm 3,7$
„Ящик 3“ (модельная популяция)	<i>n</i> %	46 $46 \pm 5,0$	45 $45 \pm 5,0$	9 $9 \pm 2,8$

Результаты. При электрофоретическом изучении мух из разных линий и популяций в центральной области гелевых колонок было выявлено пять типов распределения эстераз (рис. 1). Эти типы обозначены в соответствии с принятой символикой: $6^F C^F$; $6^S C^F$; $6^{FS} C^S$; $6^S C^S$; $6^S C^{FS}$ (*S* — медленная форма фермента, *F* — быстрая). С помощью опытов по картированию нами было показано (Пахомов и др., 1972), что эстеразы из центральной части зимограммы контролируются аллелями двух локусов (III пара хромосом): *Est-6* — в районе 37-й морганы и *Est-C* — на 44-й морганиде, что соответствует литературным данным (Wright, 1963; Beckman, Johnson, 1964).

В таблице представлены результаты сравнительного изучения инбредных и аутбредной линий, а также природной и модельных популяций — по частоте встречаемости генотипических классов, контролируемых аллелями локуса *Est-6*.

Как видно из таблицы, все три инбредные линии оказались мономорфными и включают гомозиготных особей только одного класса: *Est-6^S/Est-6^S*. В то же время все изученные аутбредные линии, выборки

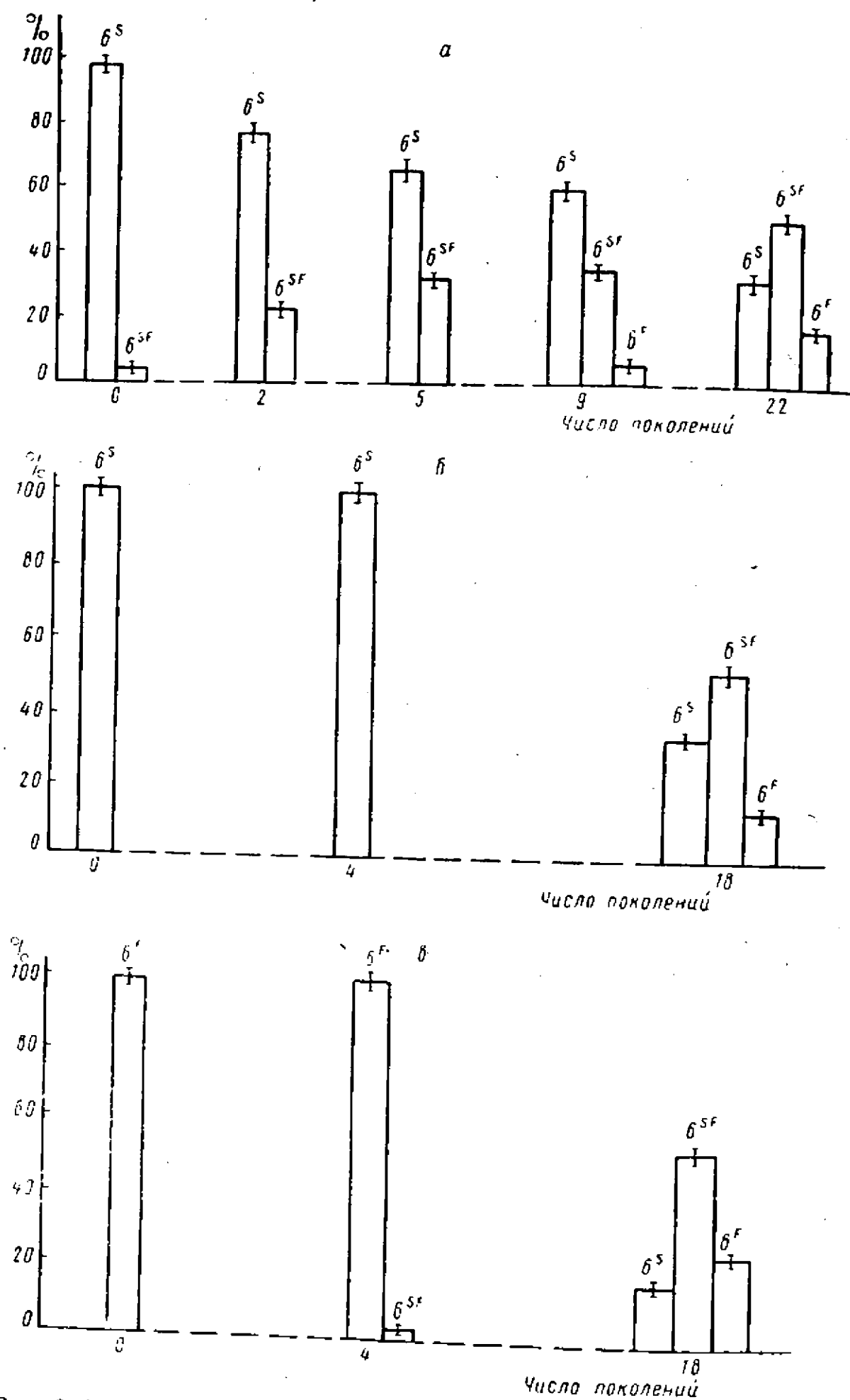


Рис. 2. Динамика частот генотипических классов мух, контролируемых локусом *Est-6*, в ряду поколений ящичных популяций.
 а — ящик № 4, б — ящик № 6, в — ящик № 7; по оси абсцисс — поколения, истекшие с момента закладки популяций в T_0 ; по оси ординат — частоты фенотипических классов мух δ^S , δ^{SF} , δ^F .

мух из природной популяции «Арапат» и долгоживущих ящичных популяций по локусу *Est-6* выявляют четкий полиморфизм, при этом степень полиморфизма оказывается в них весьма сходной. Генные частоты варьируют в относительно узких пределах: p (частота аллеля *Est-6^S*) составляет 0,6—0,7, соответственно q (частота аллеля *Est-6^F*) равняется 0,3—0,4, т. е. гомозиготы по медленной форме фермента встречаются так же часто, как гетерозиготы, тогда как гомозиготы по быстрой форме фермента появляются значительно реже.

Все проанализированные особи из линий и популяций, указанных в таблице, оказались гомозиготными по второму локусу *Est-C*, а именно — по аллелю этого локуса, контролирующему быструю форму фермента: *Est-C^F/Est-C^F*. Полиморфизм по гену *Est-C* был выявлен лишь в одном случае, в линии 307, гомозиготной по мутантным маркерам *st ss e* и разводимой путем умеренного инбридинга. 50 мух, исследованных в этой линии, распределились по следующим трем фенотипическим классам: $6^S C^S$ — $46 \pm 6,5\%$; $6^S C^{SF}$ — $46 \pm 6,5\%$; $6^S C^F$ — $8 \pm 3,9\%$.

Результаты исследования полиморфизма по локусу *Est-6* на первых этапах его развития во вновь созданных модельных популяциях представлены на рис. 2. Быстрее всего развертывание полиморфизма происходит в ящичной популяции № 4, которая включала в F_0 одну гетерозиготную особь (рис. 2, а). Но и в двух других модельных популяциях № 6 и 7, составленных первоначально из гомозиготных особей, возникновение полиморфизма происходит весьма быстро (рис. 2, б и в). Динамика изменения частот генотипических классов, очевидно, такова, что имеет тенденцию приближения к распределению, характерному для аутбредных линий и долгоживущих популяций (см. таблицу).

Обсуждение. Представленные выше экспериментальные данные свидетельствуют о том, что для изученных аутбредных линий и популяций *Drosophila melanogaster* характерен весьма стабильный полиморфизм по локусу *Est-6*, при котором частоты аллелей *Est-6^S* и *Est-6^F* равны соответственно: $p=0,6—0,7$; $q=0,3—0,4$. Этот результат наряду с выявленным нами фактом быстрого нарастания полиморфизма по гену *Est-6* во вновь создаваемых ящичных популяциях указывает на важное приспособительное значение последнего и на действие весьма мощных селективных механизмов, направленных на развитие и поддержание такого полиморфизма. Вместе с тем вопрос о природе этих механизмов остается открытым.

Весьма вероятно, что гетерозиготы *Est-6^S/Est-6^F* имеют адаптивное преимущество в сравнении с обоими классами гомозигот. Данное предположение подкрепляется результатами, полученными Мак Интайром и Райтом (McIntyre, Wright, 1966), которые продемонстрировали превосходство особей *Drosophila melanogaster*, гетерозиготных по локусу *Est-6*, в отношении выживаемости, плодовитости и некоторых других компонентов приспособленности. Вполне вероятно также возможность сцепления аллелей, контролирующих появление эстераз-6, с другими аллельными генами, которые в сильной степени влияют на приспособленность (Rasmusson e. a., 1967). Нельзя также исключить действие частотно-зависимого отбора, ярко проявившееся на той же модели (аллели локуса *Est-6*) в экспериментах Кожимы с сотрудниками (Kojima, Yarbrough, 1967; Kojima, Tobari, 1969) с ящичными популяциями *D. melanogaster*. Наконец, следует упомянуть о результатах Ямазаки (Yamazaki, 1971), изучавшего в ящичных популяциях мух *D. pseudoobscura*, которые различались по аллелям локуса *Est-5*. Этим автором вообще не было найдено различий по адаптивной ценности между сопоставлявшимися генотипическими классами.

Такая неоднородность результатов, полученных разными авторами, может быть отчасти связана с различной генотипической средой, на

фоне которой изучали эффекты аллелей эстеразных локусов, и, как следствие, с различным направлением действия отбора. Об этом, как нам представляется, может, в частности, свидетельствовать своеобразие генотипической структуры линии 307, которая в отличие от изученных нами линий и популяций оказалась полиморфной по локусу *Est-C*.

Дополнительного изучения требует вопрос об источниках изменчивости, вызвавших возникновение полиморфизма в популяционных ящиках № 6 и 7, первоначально составленных только из гомозиготных особей. Предполагая обычные темпы мутирования аллелей эстеразных локусов ($\mu = 10^{-5} - 10^{-6}$) и учитывая то обстоятельство, что количество яиц, откладываемых в популяционных ящиках при принятом нами режиме смены корма, уже через 7—10 поколений будет составлять многие десятки тысяч, несложно показать достаточную вероятность весьма быстрого развития полиморфизма, если только селективное превосходство гетерозиготных особей действительно будет достаточно существенным.

Выводы

1. Исследование природной популяции «Арагат», двух длительно существующих ящичных популяций и аутбредной линии К-1 выявило наличие в них четкого полиморфизма по аллелям локуса *Est-6*.

2. В трех вновь созданных ящичных популяциях наблюдали быстрое развитие полиморфизма по этому же локусу.

3. Три изученные инбредные линии НА, ВА и 307 оказались гомозиготными по аллелю *Est-6^S*; последняя из этих линий в отличие от всех других линий и популяций являлась одновременно полиморфной по локусу *Est-C*.

4. Полиморфизм по локусу *Est-6* у *Drosophila melanogaster* имеет, очевидно, приспособительное значение, однако требуют дальнейшего изучения механизмы, обеспечивающие его поддержание.

Summary

The genotypic frequencies of the genes *Est-6* and *Est-C* have been studied in the samples from the natural population "Ararat", outbred stock K-1, two long-continued cage populations, and four inbred stocks (LSA, HSA, K-6 and 307).

The polymorphism on the gene *Est-6* has been found in the populations studied and the outbred stock, the frequencies of the alleles *Est-6^S* and *Est-6^F* (determining "slow" and "fast" enzyme forms correspondingly) being $p = 0,6 - 0,7$ and $q = 0,3 - 0,4$. Four inbred stocks all have been found to be homozygous on the allele *Est-6^S*. Inbred stock 307 unlike three other was polymorphic on the gene *Est-C*.

In newly formed cage populations it has been observed that polymorphism on the *Est-6* gene appear soon.

The reaction of the "slow" and "fast" forms of esterases on the treatment with several chemical agents was similar but these isozymes different in their reaction on temperature treatment (incubation at 50° C for 5 minutes).

These results permit to suggest the adaptive value of the polymorphism on *Est-6* gene, but the mechanisms which maintain such a polymorphism need further studying.

ЛИТЕРАТУРА

- Гроссман А. И., Коренева Л. Г., Улицкая Л. Е. Изменчивость локуса алкогольдегидрогеназы (АДГ) в естественных популяциях *Drosophila melanogaster*. — «Генетика», 1970, № 2, с. 91—96.
- Кайданов Л. З., Лосина М. Б. Исследование генетики полового поведения *Drosophila melanogaster*. II. Восстановление высокой половой активности самцов. — «Генетика», 1972, № 8, с. 84—89.

- Кайданов Л. З., Анисимова Л. Е., Литвинова Е. М. Исследование генетики полового поведения *Drosophila melanogaster*. III. Дальнейший генетический анализ половой активности самцов. — «Генетика», 1972, № 9, с. 76—84.
- Кирпичников В. С. Биохимический полиморфизм и проблема так называемой не-дарвиновской эволюции. — Успехи совр. биол., 1972, т. 74, № 1 (5), с. 231—245.
- Пахомов А. Н., Аронштам А. А., Маргулис Б. А. Электрофоретическое исследование эстераз водорастворимой фракции белков скелетной мускулатуры в онтогенезе кур. — Журн. эволюц. и биохим. физиол., 1970, № 6, с. 617—622.
- Пахомов А. Н., Аронштам А. А., Кайданов Л. З. Исследование полиморфизма по эстеразам в линиях и популяциях *Drosophila melanogaster*. — Тезисы III съезда ВОГиС им. Н. И. Вавилова, 1972, секц. общ. и молек. генетики, вы-ставка 1, вып. 2, с. 52.
- Arnheim N., Taylor C. Non-Darwinian evolution: consequences for neutral allelic variation. — Nature, 1970, vol. 223, No 5209, p. 900—903.
- Beckman L., Johnson F. Esterase polymorphism in *Drosophila melanogaster*. — Hereditas, 1964, vol. 51, No 213, p. 212—220.
- Fox D., Abächerli E., Ursprung H. *Drosophila* enzyme-genetics: a table. — Experientia, 1971, vol. 27, No 2, p. 218—220.
- Gomori G. Microscopic histochemistry. Principles and practice. Chicago, 1952.
- Huang S., Singh M., Kojima K. A study of frequency-dependent selection observed in the esterase-6 locus of *Drosophila melanogaster* using a conditioned media method. — Proc. nat. acad. sci. USA, 1971, vol. 1, p. 97—104.
- Hubby J., Lewontin R. A molecular approach to the study of genic heterozygo-sity in natural populations. I. The number of alleles at different loci in *Dro-sophila pseudoobscura*. — Genetics, 1966, vol. 54, No 2, p. 577—594.
- Kimura M. Evolutionary rate at the molecular level. — Nature, 1968, vol. 217, No 5129, p. 624—626.
- Kimura M., Ohta T. Protein polymorphism as a phase of molecular evolution. — Nature, 1971, vol. 229, No 5285, p. 467—469.
- King J., Jukes T. Non-Darwinian evolution. — Science, 1969, vol. 164, No 3881, p. 788—800.
- Kojima K., Yarbrough K. Frequency-dependent selection at the esterase-6 locus in *Drosophila melanogaster*. — Proc. nat. acad. sci. USA, 1967, vol. 57, No 3, p. 645—649.
- Kojima K., Tobarri Y. The pattern of viability changes associated with genotype frequency at the alcohol dehydrogenase locus in a population of *Drosophila mela-nogaster*. — Genetics, 1969, vol. 61, No 2, p. 201—209.
- Krimbas B., Tsakas S. The genetics of *Dacus oleae*. 5. Changes of esterase polymorphism in a natural population following insecticide control—selection or drift? — Evolution, 1971, vol. 25, No 3, p. 454—460.
- Markert C., Moller F. Multiple forms of enzymes: tissue, ontogenetic and species specific patterns. — Proc. nat. acad. sci. USA, 1959, vol. 55, p. 753—763.
- McIntyre R., Wright T. Response of esterase-6 alleles of *Drosophila melano-gaster* and *Drosophila simulans* to selection in experimental populations. — Gene-tics, 1966, vol. 53, No 2, p. 371—386.
- O'Brien S., McIntyre R. An analysis of gene-enzyme variation in natural popu-lations of *Drosophila melanogaster* and *Drosophila simulans*. — Amer. natur., 1969, vol. 103, No 1, p. 97—113.
- Prakash S., Lewontin R., Hubby J. A molecular approach to the study of genic heterozygosity in natural populations. 4. Pattern of genic variation in cen-tral, marginal and isolated populations of *Drosophila pseudoobscura*. — Genetics, 1969, vol. 61, No 4, p. 841—858.
- Rasmusson M., Rasmusson B., Nilson L. A study of isoenzyme polymor-phism in experimental populations of *Drosophila melanogaster*. — Hereditas, 1967, vol. 57, No 8, p. 263—274.
- Richmond R. Non-Darwinian evolution: a critique. — Nature, 1970, vol. 225, No 5237, p. 1025—1028.
- Richmond R., Powell J. Evidence of heterosis associated with an enzyme locus in a natural population of *Drosophila*. — Proc. nat. acad. sci. USA, 1970, vol. 67, p. 1264—1267.
- Spiess E. Experimental population genetics. — Ann. revs. genet., 1968, vol. 2, p. 65—208.
- Wright T. The genetics of on esterase in *Drosophila melanogaster*. — Genetics, 1963, vol. 48, No 6, p. 787—801.
- Yarbrough K., Kojima K. The mode of selection at the polymorphic esterase-6 locus in cage populations of *Drosophila melanogaster*. — Genetics, 1967, vol. 57, p. 677—686.
- Yamazaki T. Measurement of fitness at the esterase-5 locus in *Drosophila pseudo-obscura*. — Genetics, 1971, vol. 67, No 4, p. 579—609.